

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月13日現在

機関番号：11301
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23650186
 研究課題名（和文）統合失調症の病態におけるオリゴデンドロサイト/オリゴデンドロサイト前駆細胞の関与
 研究課題名（英文）Participation of the oligodendrocyte/oligodendrocyte precursor cell in the morbidity of schizophrenia
 研究代表者
 大隅 典子 (OSUMI NORIKO)
 東北大学・大学院医学系研究科・教授
 研究者番号：00220343

研究成果の概要（和文）：

本研究では、マウスにおける統合失調症様行動異常とオリゴ新生との関連性について解析した。野生型マウス海馬において、オリゴ前駆細胞のほとんどは脂肪酸結合タンパク Fabp7 を発現し、約7%ほどが Pax6 を発現していた。統合失調症様行動異常としてプレパルス抑制（PPI）の低下を認める Fabp7 ノックアウト（KO）ホモ接合マウスでは海馬における OPCs の増殖に有意な変化を認めなかったが、同様に PPI 低下を呈する自然発症 Pax6 変異ヘテロ接合マウスの海馬では OPCs の増殖が有意に低下していた。

研究成果の概要（英文）：

We examined relationship between defects in prepulse inhibition and OPC-gensis. Almost all OPCs expressed Fabp7, whereas about 7% of did Pax6. Significant change was not detected in OPC-gensis of Fabp7 KO mice and Pax6 mutant mice.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,900,000	870,000	3,770,000

研究分野：神経発生学

科研費の分科・細目：脳神経科学・神経化学・神経薬理学

キーワード：統合失調症、オリゴデンドロサイト前駆細胞、オリゴ新生、神経新生、プレパルス抑制

1. 研究開始当初の背景

全精神疾患の生涯有病率は約50%とも言われており、その頻度は予想外に高い。現在、精神疾患の発症および治療の分子基盤に関する基礎および臨床研究が精力的に進められ、脳画像診断の結果より、うつ病や統合失調症患者では海馬や前頭葉皮質、扁桃体等の領域における体積減少が報告されている (Mitelman *et al.*, 2007)。また、うつ病および統合失調症の剖検脳解析において、オリゴデンドロサイトおよびオリゴデンドロサイトの前駆細胞として知られるオリゴデンドロサイト前駆細胞 (oligodendrocyte precursor cells; OPCs) に関連した遺伝子群の発現低下が認められている (Hakak *et al.*,

2001)。これらの報告から近年うつ病および統合失調症の病態とオリゴデンドロサイト/ミエリン障害との関連性が示唆されている。

OPCs は灰白質・白質を含めて脳全体に分布しており、その総量は脳の全細胞の約5%を占めると見積もられている。また、OPCs は多分化能を有しており、オリゴデンドロサイトおよびアストロサイト、神経細胞へと分化することが報告されている (Nishiyama *et al.*, 2009)。さらに、OPCs の増殖は神経幹細胞と同様に活動依存的な影響を受けており、加齢や慢性ストレスによる OPCs の減少が報告されている (Alonso *et al.*, 2000)。逆に、神経幹細胞と同様に環境強化、運動、抗精神病薬の

投与により OPCs の増殖が増加することが報告されている (Wang *et al.*, 2010)。

2. 研究の目的

上記のような背景を踏まえ本研究では、OPCs に着目して、統合失調症様の行動異常とオリゴ新生の関与を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

【マウス】

ヒトにおいて統合失調症との相関性が示唆されている *Fabp7* 遺伝子のノックアウトマウスは、すでに統合失調症様行動異常としてプレバルス抑制の低下が認められている。本研究では 4 週齢または 8 週齢の *Fabp7* KO ホモ接合マウス、*Pax6* 変異ヘテロ接合マウス (C57BL/6J 系統)、*Pax6* 変異ヘテロ接合マウス (ICR 系統) のマウスを用いた。

【免疫染色による OPCs の評価】

OPCs のマーカーとして PDGFR α を用いた。PDGFR α の抗原性は非常に失われやすいため 4%PFA による灌流固定を 5 分間行い、その後常法に則って包埋した。

【BrdU 投与による OPCs の増殖評価】

チミジンのアナログで DNA 複製の際に染色体に取り込まれる BrdU を投与することにより増殖する OPCs を標識した。BrdU の投与は午前 10 時から 2 時間おきに 3 回投与した。

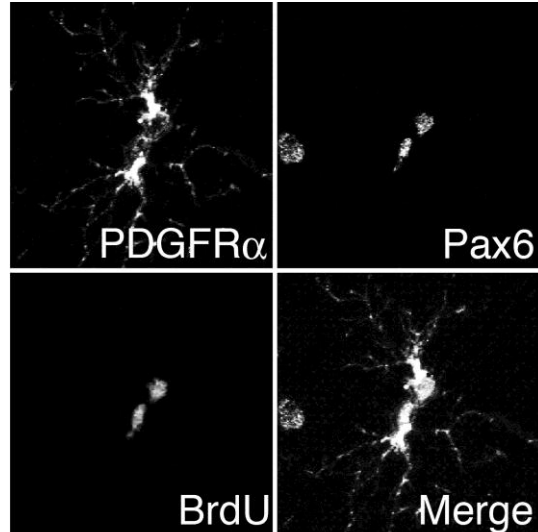
4. 研究成果

(1) *Fabp7* KO ホモ接合マウスの OPCs 解析

8 週齢のマウス海馬において OPCs における *Fabp7* の発現を免疫組織化学的に解析したところ、PDGFR α 陽性の OPCs は海馬に一樣に存在し、そのほとんどが *Fabp7* を発現していた。OPCs の増殖が *Fabp7* によって制御されるかどうか検討するため、*Fabp7* KO マウスおよび野生型同腹仔に対して増殖細胞の標識を行った。すると、これまでの報告と一致して、海馬歯状回の顆粒細胞下層に存在する神経幹細胞の増殖は *Fabp7* の欠損によって低下していたが、OPCs の増殖には有意な変化は認められなかった。したがって OPCs の増殖は *Fabp7* により制御されている可能性は低いことが明らかとなった。

(2) *Pax6* 変異ヘテロ接合マウスの OPCs 解析

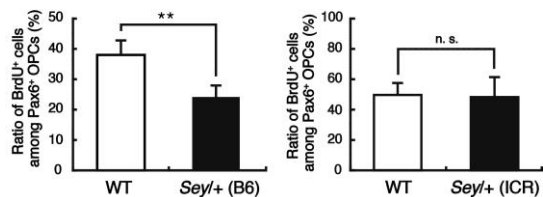
野生型マウスでは海馬 OPCs のうち約 7%程度に *Pax6* が発現しており、*Pax6* 陽性の OPCs は増殖能が高い集団であることが明らかとなった (図 1)。OPCs における *Pax6* の発現が OPCs の増殖を制御しているかを検討するため、*Pax6* ヘテロ変異マウスを用いて増殖 OPCs の定量解析を行った。その結果、OPCs における *Pax6* の heteroinsufficiency は OPCs の増殖を低下させることが明らかとなった。しかしながら *Pax6* 陽性の OPCs の増殖は *Pax6* ヘテロ変異マウスの遺伝的背景によって異なっており、C57BL/6J 系統の *Pax6* ヘテロ変異



マウスでは *Pax6* 陽性の OPCs の増殖は野生型と比べて有意に低下していたが、ICR (CD1) 系統の *Pax6* ヘテロ変異マウスでは *Pax6* 陽性の OPCs の増殖は野生型と同等であった (図 2)。

OPCs の増殖の低下がミエリン形成に及ぼす影響を検討したところ、4 週齢の C57BL/6J 系統 *Pax6* ヘテロ変異マウスでは脳梁におけるミエリン塩基性タンパク質の染色性が減少する傾向にあった。これらの結果から、*Pax6* は脳の発達期において OPCs の増殖を制御し、神経線維のミエリン化を促進している可能性が示唆された。

今後は *Pax6* が OPCs の増殖を制御する分子機構を明らかにするため、OPCs で発現が高い細胞周期関連因子 *Cyclin D1* に着目し、*Cyclin D1* の KO マウス脳における OPCs の量や増殖、ミエリン形成の様態を解析するとともに、*Cyclin D1* KO マウスの PPI を測定することが必要であると考えられる。さらに、*Pax6* が OPCs のオリゴデンドロサイトへの分化・成熟に与える影響についても今後検討していく必要があると考えられる。

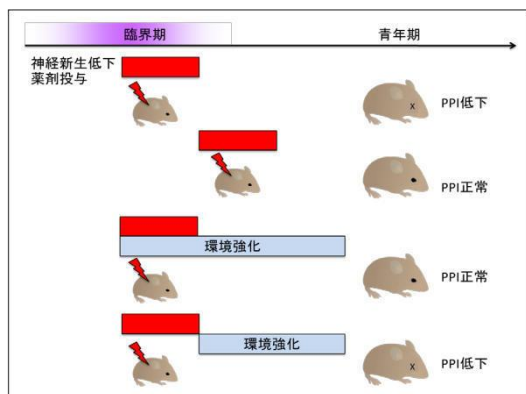


(3) PPI 成立に関わる神経新生の臨界期

発達途中の若い野生型マウスにおいて、神経新生を低下させる薬剤メチルアゾキシメタノール酢酸 MAM (1 mg/kg) を生後の異なる時期 (3 週齢あるいは 4 週齢、5 週齢、6 週齢) から 2 週間だけ投与し、性的成熟に達した 10 週齢で PPI 試験を行った。その結果、3 週齢ないし 4 週齢から MAM 投与したマウスにおいて PPI の異常が認められたが、5 週齢ないし 6 週齢から MAM を投与したマウスでは、PPI は影響を受けなかった (下図)。また、4

週齢から2週間MAMを投与したマウスにおいては、18週齢においてもPPIの低下が認められた。これらの結果より、MAMのPPIに対する効果は時期特異的な感受性があり、このPPIの異常は持続的であることが示唆された。

MAM投与によりPPIの異常が認められたマウスでは、PPIに関わることが知られる海馬歯状回において抑制性神経細胞の数が減少していることが観察された。そこで、抑制性神経細胞の減少によって抑制性の神経回路の神経伝達低下が、PPIの異常を引き起こしているかどうか検討するために、4週齢から2週間MAM投与してPPIの異常を引き起こしたマウスで、PPI測定の20分前に、両側の海馬歯状回に抑制性神経を活性化させる薬剤（ムシモル）を投与した。その結果、MAM投与によるPPIの異常が、10ngムシモルの投与により改善した。しかし、より多量のムシモル投与（100ng）では、PPIの改善は認められなかった。これらの結果より、PPIの異常は、海馬歯状回での神経新生が低下することにより抑制性神経細胞の数が減少し、抑制性の神経回路の機能が低下して誘導されることが示唆された。



さらに、MAM投与で引き起こされるPPI異常について、環境的な介入効果を検討した。4週齢から2週間MAMを投与されたマウスを、異なる発達時期（4週齢ないし6週齢）から10週齢まで、回転車や遊具等を与えて変化に富んだ環境（強化環境）において飼育した。その結果、4週齢から強化環境下で飼育されたマウスは、MAM投与によるPPIの異常が改善された。一方、6週齢から強化環境下で飼育されたマウスでは、MAM投与によるPPIの異常は改善されなかった（上図）。これらの結果より、限られた時期の環境介入が統合失調症様の異常行動の発症の予防に効果があることが示唆された。

環境強化によるPPI低下の回復実験の結果から、MAM投与により誘発される多動症状に関しては、OPCsの増殖低下の影響の可能性が残されるので、今後、この点について解析することが必要と考えられた。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計8件）

- (1) Guo, N., Yoshizaki, K., Kimura, R., Suto, F., Yanagawa, Y. and Osumi, N.: A Sensitive Period for GABAergic Interneurons in the Dentate Gyrus in Modulating Sensorimotor Gating. *The Journal of Neuroscience*, 33(15), 6691-6704, 2013 査読有（プレス発表、TVおよび新聞報道）
DOI: 10.1523/JNEUROSCI.0032-12.
- (2) Yamanishi, E., Takahashi, M., Saga, Y. and Osumi, N.: Penetration and differentiation of cephalic neural crest-derived cells in the developing mouse telencephalon. *Dev Growth Differ*, 54, 785-800, 2012 査読有（論文賞受賞）
DOI: 10.1111/dgd.12007.
- (3) Sakayori, N., Kikkawa, T. and Osumi, N.: Reduced Proliferation and Excess Astrogenesis of Pax6 Heterozygous Neural Stem/ Progenitor Cells. *Neurosci Res*, 74, 116-121, 2012 査読有
DOI: 10.1016/j.neures.2012.08.004.
- (4) Takahashi, M., Osumi, N.: Pax6 regulates boundary- cell specification in the rat hindbrain. *Mech. Dev.*, 128, 289-302, 2011 査読有
DOI: 10.1016/j.mod.2011.04.001.
- (5) Sakayori, N., Osumi, N.: Distinctive effects of arachidonic acid and docosahexaenoic acid on neural stem/progenitor cells. *Genes Cells*, 16, 778-790, 2011 査読有
DOI: 10.1111/j.1365-2443.2011.01527.x
- (6) Matsumoto, Y., Osumi, N.: Differential Proliferation Rhythm of Neural Progenitor and Oligodendrocyte Precursor Cells in the Young Adult Hippocampus. *PLoS ONE*, 6, e27628 - e27628, 2011 査読有
DOI: 10.1371/journal.pone.0027628
- (7) 酒寄信幸、大隅典子: 神経新生における脂肪酸シグナルの役割、*日本神経精神薬理学雑誌*, 31, 111-116, 2011 査読有
- (8) 大隅典子: 高度不飽和脂肪酸および脂肪酸結合タンパク質の神経新生に対する役割、*オレオサイエンス*, 11, 359-363, 2011 査読有

〔学会発表〕（計14件）

- (1) Osumi, N.: Maintenance of neural progenitor cells during cortical development: Its significance in brain

- development and evolution, Linda Buck 博士招聘高等研国際シンポジウム「感覚受容と神経回路」, 2013年2月11日, 東京
- (2) 大隅典子: 脳の機能と栄養、株式会社エヌ・ティ・ティ・データ経営研究所 応用脳科学コンソーシアム主催 応用脳科学アカデミー、2013年1月25日、東京
- (3) 大隅典子: なぜ女性科学者は少ないのかー科学的考察ー、第5回奈良先端大男女共同参画推進シンポジウム「時代を翔ける女性研究者たち ~その軌跡とキャリア展望~」、2012年12月7日、奈良
- (4) Osumi, N.: Decrease of neurogenesis as a risk for mental diseases, 第28回国際生物学賞記念シンポジウム・特別講演会, 2012年11月28日, 神戸
- (5) 大隅典子: 感覚運動ゲート機構成立における海馬神経新生の臨界期、海馬と高次脳機能学会、2012年10月7日、金沢
- (6) 大隅典子: ことばが生まれる! ~神経生物学から起源を探る~、東北大学サイエンス・カフェ、2012年9月28日、仙台
- (7) Yoshizaki, K., Osumi N.: Influence of stimulated experience of exercise on adult hippocampal neurogenesis, 第35回日本神経科学大会, 2012年9月21日, 名古屋
- (8) Kimura, R., Yoshizaki, K., Suzuki, J., Nakamura, R. and Osumi, N.: Analysis of ultrasonic vocalization in Pax6 heterozygous mutant mice, 第35回日本神経科学大会, 2012年9月21日, 名古屋
- (9) 大隅典子: 心の病の動物モデル、第4回次世代シグナル伝達医学グローバル COE 研究討論会、2012年7月9日、神戸
- (10) 山西恵美子、大隅典子: 組織幹細胞としての性質を備えた哺乳類頭部神経堤由来細胞の脳への浸潤と分化様式、第53回歯科基礎医学会学術大会・総会、2011年9月30日、岐阜
- (11) 木村龍一、吉崎嘉一、恒川雄二、松本葉子、大隅典子: オリゴ新生における Pax6 の機能解析、第34回日本神経科学学会、2011年9月17日、横浜
- (12) Nannan, G., Suto, F. and Osumi, N.: Perturbance of postnatal neurogenesis causes prepulse inhibition deficits in the adult mouse and suggests a critical period for establishment of the sensorimotor gating system, IBRO2011, 2011年7月15日, イタリア フィレンツェ
- (13) Osumi, N.: Impact of postnatal and adult neurogenesis on animal behavior, ICCN2011, 2011年6月12日, 北海道

- (14) Katsuyama, Y., Osumi, N.: Negative regulation of Notch signal by Sbn1 is essential for neuronal differentiation, Neurogenesis 2011, 2011年6月2日, 神戸

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計1件)

名称: 加齢性難聴の発症/進行が遅延するモデル動物

発明者: 大隅典子、鈴木淳、高田雄介、大和田祐二

権利者: 国立大学法人東北大学、国立大学法人山口大学

種類: 特許

番号: 特願 2012-202027

出願年月日: 平成 24 年 9 月 13 日

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等

(プレスリリース)

精神疾患発症脆弱性の臨界期を示唆 早期の環境的介入が精神疾患の発症を予防する可能性

<http://www.med.tohoku.ac.jp/uploads/130412PressRelease-osumi.pdf>

(メディア報道)

NHK ニュース: 統合失調症「思春期までに対処」の研究成果、2013年4月12日

河北新報: 心の病、思春期までの環境が影響 東北大がマウスで証明、2013年4月13日付朝刊

科学新聞: 精神疾患発症予防の可能性 早期の環境改善有効 東北大モデルマウスで解明、2013年4月19日付

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大隅 典子 (OSUMI NORIKO)

東北大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号: 00220343